

VU Research Portal

Biofysica in de aangeslagen toestand

van Grondelle, R.

1989

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

van Grondelle, R. (1989). *Biofysica in de aangeslagen toestand*. Vrije Universiteit Amsterdam.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

00300

NB

Dr.R.van Grondelle

BIOFYSICA IN DE AANGESLAGEN TOESTAND.

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar in de natuurkunde, in het bijzonder de biofysica, aan de Faculteit der Natuurkunde en Sterrenkunde van de Vrije Universiteit op 28 september 1989.



Dr.R.van Grondelle

BIOFYSICA IN DE AANGESLAGEN TOESTAND.

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar in de natuurkunde, in het bijzonder de biofysica, aan de Faculteit der Natuurkunde en Sterrenkunde van de Vrije Universiteit op 28 september 1989.



Mijnheer de Rector Magnificus,

Geachte aanwezigen,

1 Inleiding.

'Biofysica in de aangeslagen toestand'. Zoals bekend hebben aangeslagen toestanden en dus vrijwel al het onderzoek dat ik doe te maken met kleur. Kleur en leven. Vanwaar deze voorkeur? Helaas kan ik niet zeggen, dat ik in het dagelijks leven als een echte kleurenkenner bekend sta. Als mijn vrouw vindt, dat de kozijnen van ons huis naast hun normale, gebroken wit ook nog groene randjes zouden moeten hebben, kijk ik meestal al bedenkelijk. Na de vijfde praalwagen in het bloemencorso, dat jaarlijks op een steenworp van mijn voordeur voorbij trekt, begin ik trek in bruine koffie te krijgen. Natuurlijk zie ook ik alle prachtige kleuren om mij heen en natuurlijk zijn er combinaties van kleuren die zelfs bij mij een gevoel van schoonheid oproepen. Toch vermoed ik, dat ik in feite meer gefascineerd wordt door de processen en verschijnselen waar kleuren voor staan. Toen ik op mijn zevende ging voetballen moest dat in een blauwe trui met gele streep gebeuren. Ik vind blauw en geel niet bijzonder mooie kleuren, maar kiepen deed je in zo'n trui, dat scheelde minstens een paar goals! Nog steeds kan ik geen genoeg krijgen van de groene mat, de bruine knikker en de magenta shirtjes plus dito koontjes van mijn tegenstanders gedurende een door zonlicht overgoten zaterdagmiddag. Ook in de biologie staat kleur voor een achterliggend verschijnsel of gedrag en daarom gaat het bij mij in de biofysica.

Zonlicht bestaat uit een spectrum van kleuren van diep rood tot violet. Een spectrum neemt een ieder, en zeker de biofysicus, waar, op zoek naar de pot met goud. In dit zonlicht is de wereld om ons heen gekleurd. Kleuren maken het leven plezierig, een somber bestaan is een kleurloos bestaan en vrijwel al deze kleuren worden veroorzaakt door biologische kleurstoffen. De ontwikkeling van mijn kleurbewustzijn is nauw verbonden aan de fotosynthese, waarvan 'chlorofyl' en 'caroteen' de belangrijke kleurstoffen zijn. Echter, dit zijn er slechts twee uit een continu spectrum aan biopigmenten en hun mengeling levert de levende kleuren: de tinten groen van de bladeren, de tinten diep rood van de purper bacteriën, het speciale blauw van sommige wieren en voor specialisten 'the whiter shades of pale'. Kleur kan gemakkelijk bestudeerd worden, je kunt het met je blote oog

waarnemen. Echter, er zijn kleuren, die wij slechts op indirecte wijze kunnen zien; zo absorberen DNA en eiwitten licht in het nabije ultraviolet. Soms verandert een systeem gedurende korte tijd sterk van kleur. Deze kleur en kleurveranderingen geven een schat aan informatie over de eigenschappen van biomoleculen. Dat is op zich natuurlijk niets bijzonders. Dagelijks gebruiken wij kleurveranderingen als een spiegel voor ingewikkelde verschijnselen. Iemand loopt rood aan, hij schaamt zich ergens voor. De bladeren krijgen hun typische herfstkleuren, zodra het chlorofyl verwijderd wordt. Een mooie bruine huid is equivalent met een geslaagde vakantie. In een laboratorium kunnen de kleuren van het leven met grote precisie bestudeerd worden. Veranderingen in kleur worden op gang gebracht door het biologische systeem te verstoren en de reactie daarop te registreren. Bijvoorbeeld, om het bruinen van een persoon te meten, zullen we voor ons studieobject eerst een enkele reis (let op het beperkte exploitatie budget van de vakgroep) Benidorm dienen aan te schaffen teneinde de wisselwerking tussen zonlicht en biomaterie te starten. In het kader van ons EEG-programma meten we terplekke met een grote hoeveelheid dure apparatuur het bruinproces als functie van de opvallende golflengte, de intensiteit, de belichtingstijd. In onze eigen experimenten is de versturende factor ook vaak licht. Een plant wordt belicht met een lamp of een laser, en de reactie van de plant wordt waargenomen. Het is nauwelijks te voorspellen hoeveel tijd een biologische kleur verandering in beslag neemt. De eerste reacties in het fotosynthese proces verlopen binnen één picoseconde, ofwel één hele kleine seconde; het verkleuren van bladeren duurt enkele weken. Ons oog kan langzame veranderingen waarnemen, aan de VU kunnen wij kleurveranderingen 'zien' die één miljardste seconde duren en met de laser-apparatuur die wij graag willen hebben is het mogelijk processen te volgen, die korter duren dan één picoseconde.

2 Wat is nu eigenlijk Biofysica?

Voordat ik verder kleur, wil ik ingaan op de positie van het vak 'biofysica' binnen de natuurwetenschappen. Natuurwetenschappers bestuderen de natuur in al haar verschijningsvormen en doen daartoe soms ingewikkelde en dure experimenten. Biofysica betreft de levende natuur en heeft daarom met de natuurkunde, de biologie en de scheikunde het nodige te maken. En dat is maar goed ook.

De natuurkundige onderzoekt de fundamentele eigenschappen van de dode

materie. Hij doet proeven om na te gaan of zijn ideeën wel kloppen of om nieuwe verschijnselen te ontdekken. Die proeven dienen reproduceerbaar te zijn zodat eventuele variaties in de uitkomst aan het toeval toegeschreven kunnen worden. Natuurkundigen proberen op basis van hun resultaten natuurwetten te formuleren. Soms is het voldoende, indien een wiskundige relatie opgesteld kan worden, die de plaats inneemt van een tabel. Anderen menen dat de natuurwetten duiden op een hoge mate van ordening van de ons omringende materie. De natuurwetten lijken universeel en beschrijven een veelheid aan verschijnselen. Verondersteld wordt dat deze natuurwetten niet alleen de elementaire materie beschrijven maar ook complexe materie, zoals deze voorkomt in de vaste stoffen, in de grote moleculen of in de materie van het leven zoals eiwitten of DNA. Echter, het is nog maar de vraag of het verschijnsel 'leven' ooit door de bestaande natuurwetten beschreven zal worden.

Biologie onderzoekt dat verschijnsel 'leven'. Het eerste dat opvalt is de fantastische variatie: zelfs binnen één soort zul je niet twee identieke exemplaren vinden. Daarom is het begrijpelijk dat 'oog voor het individuele' karakteristiek is voor de bioloog. Darwin had nooit 'On the Origin of Species' kunnen schrijven, indien hij niet vastgesteld had dat individuen binnen één soort verschillend van elkaar zijn in vorm, fysiologie en gedrag. Omdat deze verschillen erfelijk zijn, evolueert de soort 'automatisch'. De hypothesen van de theorie van Darwin zijn door een ieder in de natuur te verifiëren. Vergelijk dit eens met een typisch 'fysische' theorie zoals de mechanica van Newton, waarin ideale massa's volmaakt eenparig langs perfecte rechte lijnen zweven. Zowel in de natuurkunde als in de biologie komen we 'natuurwetten' tegen. Vaak omschrijven de biologische wetten wel het geheel van alle waarnemingen, maar lenen zich, in tegenstelling tot de wetten van de fysica, slechts met moeite voor een voorspelling.

Natuurlijk vraagt de levenswetenschapper zich ook af welke fundamentele processen ten grondslag liggen aan 'leven'. Hij neemt aan dat de door hem waargenomen verschijnselen berusten op dezelfde natuurwetten, die gelden voor de elementaire materie. Op dit grensvlak van de disciplines vindt men de moleculaire biologie, de biochemie en de moleculaire biofysica, ieder met zijn eigen benadering en inzichten. Op dit grensvlak vindt ook de overdracht van kennis plaats tussen de disciplines, soms via intensieve

samenwerking.

De moleculaire biofysica bestudeert de elementaire structuren van het leven: de nucleïne zuren, de eiwitten en de biologische membranen. Het DNA is de drager van de erfelijke code en sinds Watson en Crick beschikken we over een model van DNA: de dubbele helix, waarin twee om elkaar spiraliserende suiker-fosfaat ketens vier typen basen binden. Tegenover een guanine zit altijd een cytosine en tegenover een adenine altijd een thymine. Een groepje van drie basen bevat de genetische code voor één aminozuur, de bouwsteen van de eiwitten. Een serie base-tripletten codeert voor een heel eiwit, en zo'n serie wordt een gen genoemd. Voor de replicatie en de transcriptie van DNA bezit een cel meerdere eiwitten, die in staat zijn de informatie perfect te vertalen.

De tweede structuur betreft de eiwitten. Eiwitten doen iets, het zijn de arbeiders van de levende cel. Vaak zorgen ze ervoor dat een bepaalde reactie op één specifieke wijze verloopt. Een eiwit bestaat uit een keten van aminozuren, waarvan de precieze drie dimensionale opvouwing de functie bepaalt. Daarnaast bevat een eiwit soms extra componenten. Bijvoorbeeld het fotosynthetische reactiecentrum, een eiwit dat instaat is de energie van de zon om te zetten in voor de cel bruikbare energie. Het eiwit houdt de pigmenten die het zonlicht absorberen op de goede plaats. Bovendien zorgt het eiwit dat de energieconversie op de juiste wijze verloopt. Voor de opheldering van deze structuur is dit jaar de Nobelprijs uitgereikt aan Michel, Deisenhofer en Huber. De derde belangrijke biologische structuur is het membraan. Membranen bestaan uit vetachtige verbindingen, waarvan de kopgroep waterlievend is, terwijl de lange staarten waterhatend zijn. Membranen zorgen ervoor dat cellen in compartimenten verdeeld worden, zodat biologische processen ruimtelijk van elkaar te scheiden zijn. Bovendien kunnen selectief bepaalde ionen aan één kant van het membraan opgehoopt worden en zo'n concentratie verschil is bruikbaar in de energie- en informatie huishouding van een cel.

De moleculaire biofysica bestudeert deze elementen van het leven. Bedenk wel dat deze moleculen zelf niet leven. Dat fenomeen is voorbehouden aan de cel, waarvan deze moleculen onderdelen zijn.

Net als andere takken van de 'kleine' natuurkunde is de moleculaire

biofysica in eerste instantie een experimenteel vak en dankzij vernuftige experimenten is de huidige kennis over de levende materie opgebouwd. Conceptueel leunt de moleculaire biofysica op de natuurkunde van gecompliceerde systemen, zoals de moleculaire natuurkunde, de chemische fysica en de thermodynamica. Anderzijds spelen concepten uit de moleculaire biologie en de biochemie een belangrijke rol. De toepassing van de theorie beperkt zich veelal tot de 'verklaring achteraf'. Voorspellingen komen nog moeizaam tot stand. Zo was Pauling's voorspelling van het bestaan van de α -helix als fundamentele eenheid in de eiwit structuur op grond van elementaire fysisch-chemische principes een enorm succes. Echter, zelfs een ogenschijnlijk simpel probleem, als de berekening van de drie-dimensionale structuur van een eiwit uit de aminozuur volgorde, lijkt onoplosbaar. Laat staan de voorspelling van een biologisch proces, de organisatie van de levende cel of het verschijnsel 'bewustzijn'! De concepten en de samenhang met andere begrippen uit natuur- en scheikunde moeten grotendeels nog ontdekt worden.

Over het gebruik van de natuurkundige methoden en theorieën twee anekdotes. Eind vorige eeuw waren ook de biologen bezeten door de drang tot unificatie van de natuur. Men was op zoek naar dé cel, dé erwt, dé mens. En vond men al verschillen, dan had men de neiging deze hiërarchisch te interpreteren. Indien Mendel als natuurkundige opgeleid was geworden, had hij zeker de afmetingen van al zijn erwten gemiddeld, zoals onder zijn tijdgenoten populair was. Men kan gerust stellen dat het unificatie idee de ontwikkeling van de moderne genetica tientallen jaren vertraagd heeft, totdat begin deze eeuw het werk van de Oostenrijkse monnik opnieuw ontdekt werd. De tweede anekdote heb ik geleend van George Feher, en hij vertelde deze bij een symposium over het al genoemde fotosynthetische reactiecentrum, waar theoretici met vallen en opstaan de betrokkenheid van bepaalde groepen in de primaire processen trachten te voorspellen. De biofysicus doet een experiment in zijn laboratorium en stelt vast dat A groter is dan B. Hij gaat naar de theoreticus en vraagt of daarvoor ook een verklaring is. Deze begint te rekenen, schrijft bord na bord vol, denkt uren na, en ja hoor, het klopt: A is groter dan B. Wel, tevreden begeeft de experimentator zich laboratoriumwaarts, alwaar hij bedroefd begroet wordt door zijn assistent de student experimentele natuurkunde, die in het kader van zijn afstudeer-project het bewuste experiment nog maar een keer over doet. "A is kleiner dan B" klaagt hij "en ik kan niet vinden waar de fout zit". De dag daarop

doen ze samen het experiment over en warempel: A is toch kleiner dan B. De onderzoeker gaat met hangende pootjes naar de theoreticus en vertelt het slechte nieuws. "A is toch kleiner dan B" mompelt hij, "hoe moet dat nou?". "Geeft niets", antwoordt de theoreticus tot zijn verbazing, "dat kan ik nog veel eenvoudiger verklaren".

3 Biomoleculen en licht: de aangeslagen toestand.

Dames en Heren, terug naar de kleuren. Moleculen hebben een kleur omdat zij licht absorberen uit het zichtbare deel van het spectrum. Een licht bundel kan men opgebouwd denken uit een stroom van energie pakketjes, fotonen, elk met een vaste energie, die samenhangt met de kleur van het licht. Een blauw foton bevat meer energie dan een rood foton. Indien zo'n fotonen stroom een molecuul raakt, kan de energie van één foton gebruikt worden om het molecuul te exciteren. Het molecuul gaat van een toestand met lage energie, de grondtoestand, naar een toestand met hoge energie, de aangeslagen toestand. Of dat al dan niet gebeurt hangt af van het precieze energieverschil tussen de twee toestanden, die gelijk moet zijn aan de energie van het foton en de precieze fysische eigenschappen van het pigment molecuul. Een belangrijke factor is de polarisatie richting van het licht ten opzichte van de moleculaire orientatie. Eenmaal in de aangeslagen toestand heeft het molecuul niet het eeuwige leven. Op den duur zal het terugvallen naar de grondtoestand, bijvoorbeeld onder de uitzending van licht.

In biologische systemen bestaat veelal een hoge mate van lokale ordening, door de natuur opgelegd en van belang voor het functioneren van het systeem. Zo zijn planten erin geslaagd de chlorofyl moleculen zo te ordenen dat meer dan 95 % van de opvallende fotonen voor de fotosynthese gebruikt kan worden. Een blik op dubbelstrengs DNA laat de hoge ordening van de baseparen zien, van groot belang voor processen als replicatie en transcriptie. Daarom is het zinvol biomoleculen te bestuderen met gepolariseerd licht en in ons laboratorium beschikken wij over apparatuur, waarmee dat gedaan kan worden. Een goede methode daartoe is excitatie van biomoleculen, of zo men wil een intact blad, met een gepolariseerde laser flits. Juist die pigmenten zullen geëxciteerd raken, waarvan de absorptie richting correspondeert met de polarisatie richting van het opvallende licht. Via deze polarisatie wordt informatie verkregen omtrent processen als energieoverdracht of beweging. Ook kunnen de biomoleculen macroscopisch

geordend worden en gedraagt ons preparaat zich als een polaroid. Eén manier om biomoleculen te ordenen is ze te kristalliseren, vaak nemen wij de deeltjes op in een gel, die uitgericht wordt. Dergelijke experimenten hebben recent geleid tot precieze ideeën omtrent de ordening van DNA in DNA-eiwit complexen, de associatie van carcinogene verbindingen aan DNA of de ordening van pigmenten in eiwitten en in membranen. Zo ook hebben wij recent, in samenwerking met dr. Michael Bloemendal, werkzaam bij de Faculteit Scheikunde van de VU, ontdekt dat in de aggregaten van oogenseiwitten een voorkeurs oriëntatie van de aromatische aminozuren bestaat. Wij gebruiken deze polarisatie verschijnselen om meer te weten te komen omtrent de aggregatie van deze eiwitten en de gevoeligheid voor het cellulaire milieu. Ik verwacht dat deze experimenten in de toekomst ook in vivo in beduidend complexere systemen mogelijk worden. In dat geval is het meest serieuze probleem dat we niet met een gezuiverd preparaat te maken hebben en excitatie met licht niet selectief één pigment treft. Mogelijk wordt door het gebruik van microtechnieken de selectiviteit deels teruggewonnen.

4 Biofysica in een flits.

Licht brengt biomoleculen in een aangeslagen toestand. Door biomoleculen met een hele korte laserflits te belichten maken ze allemaal tegelijkertijd de sprong; we zetten de klok voor alle moleculen gelijk. Eenmaal in de aangeslagen toestand verschiet het preparaat van kleur en deze kleurverandering kan met een tweede zwakke lichtflits geregistreerd worden. Een dergelijk experiment noemt men een 'exciteer-meet experiment', in het engels 'pump-probe'. De excitatie hoeft niet noodzakelijk licht te zijn, maar in onze experimenten is dat meestal wel zo.

We kunnen vervolgens twee gevallen onderscheiden. Soms is de absorptie van een foton noodzakelijk voor het verloop van een biologisch proces. Zo is in fotosynthetische organismen de aangeslagen toestand van chlorofyl de eerste stap op weg naar de opslag van zonne-energie. In het proces van het zien is de aangeslagen toestand van retinal de eerste stap op weg naar beeldvorming. Er zal er na afloop een product waar te nemen zijn, dat de onderzoeker de nodige informatie verschaft over de loop van de gebeurtenissen. Bestudeerd wordt, hoe deze verandering is ontstaan door voor, tijdens en na de excitatie steeds de kleur van het preparaat te bepalen.

Voor andere biomoleculen is de absorptie van licht niet gerelateerd aan hun functie. Toch kan de biofysicus de aangeslagen toestand gebruiken om deze moleculen te bestuderen. Vrijwel alle eiwitten bevatten gekleurde aminozuren, zoals tryptofaan, dat licht absorbeert in het nabije ultraviolet. Excitatie met een korte, gepolariseerde laser puls zal een fractie van deze tryptofanen exciteren, en gedurende die tijd onderscheiden zij zich van de rest. Wij kunnen de gepolariseerde absorptie of emissie eigenschappen van het tryptofaan volgen en hopelijk op die manier het eiwit. De aangeslagen tryptofanen zijn 'spionnen', die de waarnemer rapporteren over alles wat gaande is.

Het is aardig deze ideeën te illustreren aan een alledaags voorbeeld, dat ook aan mijn kinderen enig inzicht in het beroep van hun vader kan verschaffen. Er is een kleuterklas, waarvan we het gedrag na een ernstige verstoring willen bestuderen. Daartoe plaatsen we op 5 december een fotograaf in de klas, met een fototoestel en een flitser. We hopen dat de flitsende fotograaf het gedrag van de kinderen niet ernstig verstoort. Was de klas eerst nog in een toestand van betrekkelijke rust, de grondtoestand zou een biofysicus zeggen, na binnenkomst van de bisschop is de verzameling kleuters in een zeer aangeslagen toestand en verloopt er een complex proces, dat uiteindelijk uitmondt in een stabiel product: ieder een kadootje en Sint op zijn schimmel. Omdat de fotograaf stiekum foto na foto heeft zitten maken, is het verloop van het Sinterklaasfeest, door de experimentator vastgelegd. Na ontwikkeling van de foto's kan het proces geanalyseerd worden. Elke foto is een palet van kleuren. Er zijn constante factoren, zoals het gebouw, de buitenlucht, er zijn langzame bewegingen zoals de juf en Sinterklaas. Er zijn ook snelle bewegingen, vaak afkomstig van de kleuters. Niet alle kinderen zijn op alle foto's even goed waar te nemen. Kinderen in fel gekleurde kleren zie je goed, kinderen in grauwe kleren minder. Sommige kinderen zijn speciaal gekleurd zodat we ze extra goed kunnen waarnemen. Op de ene foto lijkt de kleuterklas in een zeer geordende toestand, op de andere is het één warboel en schieten de kleuren heen en weer. Deze in tijd en plaats variërende spectra zijn mogelijk uit te leggen in termen van een theoretisch model omtrent het gedrag van een kleuterklas. We kunnen overigens een aantal fundamentele verschijnselen zien in dit biologische systeem: zoals overdracht van excitatie energie, overdracht van deeltjes, en zelfs tunneling (hoe zijn die kadootjes anders in de klas gekomen?).

Biofysici kijken naar gebeurtenissen op moleculaire schaal, met afmetingen één miljoen tot één miljard keer kleiner dan deze kleuterklas. Een biofysicus kan geen foto's maken van de gebeurtenissen. Met een zwak meetflitsje wordt de kleur van het preparaat gemeten en het verkregen spectrum is gelijk de afdruk van de foto. Sinterklaas is de laserflits, die alles overhoop gooit. Het intense blauw-groene licht brengt de carotenen in ons blad in de aangeslagen toestand en zij verliezen direct hun kleur. De spectra opgenomen nadat de sterke excitatie flits voorbij is, vertonen voornamelijk veranderingen tengevolge van moleculen met een sterke kleur, de pigmenten, het kind met de oranje pruik. De zwak gekleurde moleculen zien we nauwelijks en naar hun gedrag moeten we gissen. Korte tijd na de sterke laserflits hebben de carotenen hun kleur teruggekregen; de excitatie energie is binnen enkele picoseconden doorgegeven aan het chlorofyl en daarom is het preparaat van kleur veranderd. Net als bij de fotoserie wordt het tijdscheidend vermogen bepaald door de duur van de meetflits. Alles wat zich gedurende de meetflits afspeelt wordt als het ware bij elkaar opgeteld. Overigens, indien het blad nu belicht wordt met infrarood licht, een kleur die normaal ongemerkt zou passeren, wordt plotseling dit licht versterkt. De hoge concentratie aangeslagen chlorofyl moleculen veroorzaakt gestimuleerde emissie. Ons blad geplaatst tussen twee spiegels en het is een laser!

Daarnaast wordt een methode gebruikt, die berust op de fluorescentie van moleculen na belichting. Bijvoorbeeld chlorofyl fluoresceert in het rood en deze rode fluorescentie is met het blote oog in de natuur waar te nemen. In het laboratorium is deze fluorescentie met een zeer hoog tijdscheidend vermogen van enkele picoseconden te registreren. Het is alsof de kinderen in onze kleuterklas zo opgewonden zijn dat ze licht geven. Misschien gebeurt dat ook wel?

5 Fotosynthese en de tand des tijds.

De eerste fluorescentie experimenten dateren van halverwege de vorige eeuw en zijn geassocieerd aan beroemde namen: Stokes en Brewster, met de zon als lichtbron en het oog als detector. Na de oorlog heeft de fotomultiplicatorbuis het oog in spectroscopische experimenten vervangen. Hiermee werd een breder spectraal bereik toegankelijk en verbeterde het tijdplossende vermogen. De zon werd vervangen door een flitsbuis en later door een gepulste laser. Hun toepassing in biofysisch onderzoek is hand in

hand gegaan met het meten van steeds snellere processen in de fotosynthese. Daarom zal ik hier kort het fotosynthese proces belichten en enkele essentiële vragen aangeven.

Fotosynthese gebruiken planten en een aantal bacteriën om energie van de zon vast te leggen in stabiele producten, die gebruikt kunnen worden om te groeien, te vermenigvuldigen enzovoort. Uiteindelijk vormen de producten van de fotosynthese verreweg de belangrijkste bron van energie voor het leven op aarde. Bovendien dient bedacht te worden dat fotosynthese het enige proces is dat gratis CO_2 uit de atmosfeer verwijdt en de geringste verandering in de efficiëntie van dat proces kan enorme gevolgen hebben voor de wereld energie huishouding, inclusief de verwachte temperatuurstijging ten gevolge van het 'broeikaseffect'.

Zonder chlorofyl geen fotosynthese, ondanks het feit dat chlorofyl zonlicht nauwelijks absorbeert. Wel het caroteen, en sinds het unieke werk van Duysens in de jaren vijftig weten we dat deze pigmenten na excitatie de energie doorgeven aan het chlorofyl. Ook tussen chlorofyl moleculen onderling treedt zeer efficiënte energie overdracht op: in een intact fotosynthetisch organisme kunnen vele pigmenten samenwerken bij het vangen van het licht. Na absorptie volvoert de excitatie een dronkemanswandeling in een zee van pigmenten, tot uiteindelijk een speciaal chlorofyl molecuul, gelegen in het reactiecentrum geëxciteerd raakt en een ladingsscheiding plaatsvindt. De verliezen onderweg zijn slechts gering. Hoewel deze proeven eerst met bacteriën werden uitgevoerd, vermoedde men dat de primaire processen in planten op vergelijkbare wijze verliepen. Het grote verschil met bacteriën is de aanwezigheid van twee reactie centra die in serie opereren. De reductant, door de eerste fotoreactie gegenereerd, is voldoende om de verbinding NAD^+ te reduceren, terwijl de oxidant van de tweede fotoreactie voldoende is om water te oxideren, waarbij O_2 vrij komt.

Een unieke eigenschap van al deze fotosystemen is, dat ze gelegen zijn in een membraan. Daarom vinden we de hoge graad van ordening van de fotosynthetische pigmenten. Bovendien is de ladingsscheiding een transmembraan proces en gekoppeld aan het transport van protonen. Zo wordt licht energie omgezet in zowel een protonen-gradient als een electrisch potentiaal verschil over het membraan en beide dragen bij aan de vorming van ATP, de universele biologische energiedrager.

Tijdscheidende experimenten die inzicht verschaffen in de eerste reacties zijn sinds de jaren vijftig met veel elan uitgevoerd, waarbij ruwweg per decennium het tijdscheidend vermogen een factor 1000 verbeterde. Milliseconden in 1950, femtoseconden nu! Toen ik in 1973 het toenmalige laboratorium voor Biofysica aan de Schelpenkade in Leiden betrad, kreeg ik een apparaat toegewezen, waar een snelle sluiters letterlijk door een geweer afgevuurd kon worden. Helaas beschikte men in 1973 al over microseconde-flitsen waarmee de electron overdracht van cytochroom naar chlorofyl bepaald kon worden. Sommige van deze reacties bleken zelfs bij enkele graden boven het absolute nulpunt nog te verlopen en dit heeft geleid tot specifieke ideeën omtrent de betekenis van tunneling in de biomaterie.

Eind zestiger, begin 70er jaren deden de gepulste lasers hun intrede in het biofysische onderzoek. Eerst de z.g. 'Q-switched' lasers en midden 70er jaren de picoseconde lasers. Bekende namen uit de laser technologie zijn aan deze vroege experimenten verbonden: Shank, Rentzepis, Porter e.a. De techniek die men toepaste om deze korte pulsen te produceren is gebaseerd op het verschijnsel 'modelocking', waarbij men een groot aantal modes tegelijkertijd in de lasertrilholte toelaat, terwijl de onderlinge faserelatie gefixeerd wordt. In het begin betrof het voornamelijk neodmium lasers, waarmee een intense puls van een 10-tal ps verkregen kon worden. In de loop van de jaren zijn andere lasers ontwikkeld, waarvan de synchroon gepompte kleurstoflaser de meeste toepassing heeft gevonden. Tegenwoordig kunnen met een dergelijke laser routinematig subpicoseconde pulsen geproduceerd worden, van vrijwel iedere gewenste kleur en intensiteit. In sommige laboratoria is men zelfs in staat om met speciaal ontworpen lasers flitsen van een 10-tal femtoseconden te produceren, die recent gebruikt zijn om de primaire fotoreacties van het bacteriorhodopsine te onderzoeken, een pigment dat in speciale bacteriën voorkomt, maar functioneel sterk op onze oogpigmenten lijkt.

Dergelijke lichtpulsen zijn de afgelopen jaren gebruikt om de primaire processen in het reactiecentrum te onderzoeken, onderzoek dat natuurlijk zeer gestimuleerd is door de reeds genoemde opheldering van de structuur. De primaire electrondonor is een chlorofyl dimeer, die geflankeerd wordt door twee chlorofyl monomeren. In beide takken bevindt zich vervolgens een feofytine, en uiteindelijk aan beide zijden een chinon. Ondanks de hoge

symmetrie vindt slechts electronen overdracht plaats langs de L-tak van de pigmenten. Naar de feofytine in 3 ps, door naar het chinon in de L-keten in 200 ps, en tenslotte naar het chinon in de M-keten. Het gat op de dimeer wordt in enkele microseconden aangevuld. De rol van het tussenliggende monomeer chlorofyl staat ter discussie: of het electron passeert het op zijn weg, of de monomeer koppelt via het 'superexchange' mechanisme de aangeslagen toestand met een toestand waarin de ladingen gescheiden zijn. In de toekomst zal dit onderzoek zich richten op de rol van speciale aminozuren in het eiwit bij deze electronen overdracht. Tevens lijkt het erop dat conformatie veranderingen van het eiwit de electronen overdracht begeleiden. Van groot belang hierbij is het feit dat wij met behulp van moderne DNA-technieken in staat zijn dit eiwit op elke gewenste positie te modificeren.

Met de komst van de gepulste lasers bleek het ook mogelijk het proces van licht-inzameling te bestuderen. In de eerste experimenten werd de fluorescentie geëxciteerd met een intense laserflits, waarbij tegelijkertijd vele excitaties geproduceerd werden. Omdat deze excitaties met een hoge snelheid door het uitgestrekte rooster van chlorofyllen bewegen, is de kans groot dat excitaties elkaar zullen tegenkomen en annihilieren. Dit exciton-annihilatie verschijnsel is gebruikt om gedetailleerde gegevens te krijgen over de exciton diffusie in zo'n rooster. Samen met drs. Jacques Bakker en dr. Frank den Hollander, van het Instituut Lorentz in Leiden heb ik experimenten gedaan in fotosynthetische bacteriën waarbij het fluorescentie rendement en de efficiëntie van de fotosynthese bepaald zijn als functie van de laserenergie. Analyse op basis van een door ons opgesteld model leverde de snelheid van exciton diffusie in het rooster en de grootte van het netwerk, tenminste 1000 chlorofyl moleculen. Deze experimenten zijn uitgebreid naar aggregaten van kleurstof moleculen en ik hoop ze in de toekomst te kunnen uitvoeren in eiwitten of DNA.

Het energie-inzamelingsproces is later voornamelijk onderzocht met laserpulsen van beduidend geringere intensiteit. De uitkomst is dat de hoeveelheid tijd nodig om de excitatie in het reactiecentrum in te vangen en om te zetten in een nuttige ladingsscheiding niet veel meer is dan 50 tot 100 picoseconden, hetgeen in overeenstemming is met het hoge rendement van de fotosynthese. Zelf heb ik in samenwerking met dr. Sundström uit Umeå

in Zweden intensief de pump-probe methode toegepast in fotosynthetische bacteriën en zo de route en van het energie overdrachtproces bepaald. De conclusie van dit werk is dat energieoverdracht zeer snel de excitaties concentreert op de meest rode pigmenten in het spectrum, die zich rondom het reactie centrum bevinden. Opvallend is dat het moeilijk blijkt te zijn de laatste stap naar het reactiecentrum te maken en daarbij speelt mogelijk een bijzondere pigmentvorm een rol. Alsof er een gootje om het reactiecentrum is gegraven dat eerst volloopt, voordat de energie in een ladingsscheiding verdwijnt. Ook dit werk zal zich in de toekomst richten op de rol van de eiwitten, zowel bij de precieze afstemming van de kleur van de pigmenten, als bij het onderdrukken van ongewenste verliezen.

6 Aangeslagen eiwitten en moleculaire dynamica.

Enkele woorden over eiwitten. Er bestaat een algemene consensus over het idee dat de functie van eiwitten gekoppeld is aan specifieke dynamische processen. Denk hierbij aan de herkenning van bepaalde structuren of groepen door eiwitten, of de efficiënte uitvoering van een enzymatische reactie. Het tijdsbestek waarbinnen deze conformatie-dynamica zich afspeelt loopt van subpicoseconden tot seconden, en slechts de toepassing van een breed scala van technieken staat ons toe deze dynamica in kaart te brengen. Omdat een gepolariseerde laserflits een niet isotrope verdeling van aangeslagen toestanden produceert, is laser spectroscopie een uitstekende techniek om deze bewegingen te bestuderen. In het eiwit Γ -crystalline wordt één van de vier tryptofanen door een laserflits geëxciteerd. Zowel rotatie beweging als energie overdracht beïnvloeden het verval van de gepolariseerde emissie of absorptie. De uitkomst van dergelijke metingen kan voor middelgrote eiwitten in detail vergeleken worden met uitkomst van een moleculaire dynamica simulatie.

Anisotropieverval verschijnselen kunnen niet alleen heel snel maar ook langzaam geregistreerd worden. Het experimenteel toegankelijke tijdsvenster is ongeveer vanaf 1 picoseconde tot 10 milliseconden. In het laatste geval maakt men gebruik van langlevende aangeslagen toestanden, waarvan de gepolariseerde eigenschappen bepaald kunnen worden. Echter een vergelijking met moleculaire dynamica simulaties vervalt en we moeten terugvallen op modellen. Bijvoorbeeld een DNA-eiwit complex kunnen we voorstellen als een flexibele keten van bolletjes, waarvan de dynamica berekenend kan worden.

Perspectief van de biofysica.

De moleculaire biofysica staat op een historisch punt in haar bestaan. Dankzij de nieuwe moleculair biologische en biochemische technieken kan elk element in een eiwit of DNA molecuul door een ander vervangen worden. Met behulp van optische spectroscopie, NMR, Röntgen diffractie en vele andere technieken is de biofysicus in staat alle aspecten van functie en structuur van deze biomaterie na te gaan en dit zal op niet al te lange termijn leiden tot een volledig inzicht in de aard van de biomaterie en beschrijving in fysisch-chemische termen.

Dan weten we nog niets van de cel. We weten weinig of niets van de combinaties tussen meerdere biomoleculen die essentieel zijn voor het verschijnsel leven. Een geïsoleerd reactie centrum bedrijft zeer inefficiënte fotosynthese, een DNA-molecuul, zelfs wanneer daar nog enkele eiwitten aan zijn gebonden is biologisch niet actief en zeer labiel, specifieke associatie van de oog lens-eiwitten houdt het oog helder, andere aggregaten maken haar troebel. Het zijn deze combinaties van biomoleculen die belangrijk zijn voor de processen van het leven. En bij voorkeur niet de aggregaten in een potje, maar in een levende cel. Ik verwacht dat we met behulp van optische technieken op den duur in staat zullen zijn op moleculair niveau uitspraken te doen omtrent de eigenschappen van biomoleculen in de cel.

Het is duidelijk dat deze informatie bijzonder gewenst is. Nu al worstelt men in het kankeronderzoek met het probleem dat men de wisselwerking tussen een anti-tumor drug en een kankercel snel en in zo veel mogelijk detail zou willen karakteriseren, ten einde een beslissing te nemen over een mogelijke therapie. Als wij ooit inzicht willen krijgen in processen als veroudering, één van de echte relevante vragen van het leven, dienen we op cellulair niveau uitspraken te kunnen doen over de organisatievormen van de levende materie.

7 De kleur van de VU-biofysica.

Wat moeten we verwachten van de toekomst van de vakgroep biofysica aan de VU? Drie elementen spelen daarbij een essentiële rol. Ten eerste de positie van de vakgroep binnen de faculteit Natuurkunde en Sterrenkunde. Het is een goede zaak dat de door de vakgroep gewenste apparatuur binnen de faculteit op brede en daadwerkelijke steun kan rekenen. Het is ook goed dat ingezien

wordt dat het succesvol bedrijven van biofysica op den duur een personele versterking van de vakgroep betekent. Echter, gezien de beschikbare middelen voor onderzoek is niet alleen de biofysica, maar de gehele natuurkunde ernstig aangeslagen en al het mogelijke dient gedaan te worden om deze ontwikkeling te keren.

In de tweede plaats de positie van de biofysica in het geheel van de samenwerkende VU β -faculteiten. Het is mijn stellige overtuiging dat de VU β -faculteiten zich in gunstige zin kunnen profileren, zowel tegenover subsidiegevende instanties als tegenover studenten, door op de grensvlakken van de disciplines het onderzoek en onderwijs te versterken. Biofysica vinden we bij de Natuurkunde, Fysische Biologie bij de Biologie en Biofysische Chemie bij de Scheikunde, alhoewel dat laatste misschien niet zo'n duidelijke status heeft, en het zou van wijsheid getuigen indien deze research activiteiten gebundeld worden in één sterke groep, met deelname van alle drie de faculteiten. Studenten zou op deze manier een mogelijkheid geboden worden zich te trainen op het kruispunt van deze vakken. De VU kan als één van de weinige instellingen in Nederland deze combinatie tot stand brengen zonder dat de deelnemende groepen het contact met de basis verliezen, alles zit nu al in één gebouw. Daarbij zou een natuurlijk exciplex gevormd kunnen worden met de geplande bundeling van de laser activiteiten. Ten aanzien van NWO dient u zich hierbij te bedenken dat in vrijwel alle bijzondere NWO-subsidie vormen (PIONIER, program-subsidie, thema-financiering) juist het interdisciplinaire karakter van de onderzoeksvoorstellen een essentiële rol speelt.

Ten derde de rol van de moleculaire biofysica binnen het geheel van de VU. Reeds nu bestaan talrijke contacten tussen de vakgroep en onderzoekers aan de medische faculteit, waarbij hetzij de spectroscopische technieken, hetzij de vraag naar moleculaire informatie van belang is. Moleculaire geneeskunde, ik denk hier bijvoorbeeld aan het op moleculair niveau ontwerpen van genees- middelen, is een vakgebied in wording. Zonder kennis van de relevante structuren en processen zijn dit soort ontwikkelingen natuurlijk uitgesloten. Ik verwacht hier een stormachtige ontwikkeling waarop slechts adequaat ingespeeld kan worden via de hierboven genoemde bundeling van de β -biofysica.

8 Dankwoord.

Dames en Heren,

Graag wil ik van de gelegenheid gebruik maken diegenen te bedanken die al dan niet bewust hebben bijgedragen tot dit moment.

Dames en Heren, leden van de Vereniging voor Christelijk Wetenschappelijk onderwijs, leden van het College van Bestuur en van het College van Dekanen.

Ik wil u danken voor het vertrouwen in mij gesteld door mij voor te dragen en te benoemen tot hoogleraar aan Uw Universiteit. Ik zal proberen in de mij gegeven tijd deze taak naar eer en geweten te vervullen.

Dames en heren, hoogleraren en leden van de wetenschappelijke, technische en administratieve staf van deze universiteit en in het bijzonder van de faculteit Natuurkunde en Sterrenkunde.

Ik hoop dat de biofysica binnen Uw faculteit een bloeiende tijd tegemoet gaat waar internationaal erkend en voor studenten aansprekend onderzoek verricht kan worden, dat wij nu en in de toekomst in overleg de problemen kunnen oplossen, dat wij door samenwerking onze faculteit kunnen versterken. Ik hoop dat de samenwerking binnen de vakgroep biofysica blijft wat het is.

Hooggeleerde Westerhof, beste Nico,

Toen ik in 1971 als student experimentele natuurkunde bij de Medische faculteit van de VU een afstudeer onderzoek ging doen, kon ik niet vermoeden dat deze keuze mijn toekomst zo sterk zou beïnvloeden. Als er iemand voor gezorgd heeft dat ik in de biofysica door ben gegaan, ben jij het wel geweest, in het bijzonder door je zeer enthousiasmerende begeleiding. Ik hoop dat ook onze wetenschappelijke wegen elkaar eens zullen kruisen.

Hooggeleerde Duysens, beste Lou,

Een biofysicus ben ik in Leiden geworden. Je bent erin geslaagd om aan mij je grote wetenschappelijke liefde, de fotosynthese, door te geven, en ik kan het niet ontkennen: het is verslavend. In mijn ogen was jij er op zeldzame wijze in geslaagd nieuwe, de nieuwste, methoden te combineren met

een uniek onderzoek. Ik hoop dat ik in de Duysens-traditie met de moleculaire biofysica en met de fotosynthese verder kan gaan.

Hooggeleerde Blok, beste Johan,

In 1982 heb jij mij uit Leiden naar Amsterdam gehaald. Ik heb mij toen nooit gerealiseerd welk een grote verandering dat in zou gaan houden voor mijn wetenschappelijke werk. Ik geloof dat mijn kennismaking met de wereld van DNA en eiwitten uiteindelijk voor mijzelf de doorbraak heeft betekend naar wat vandaag 'moleculaire biofysica' is genoemd. Je overzicht over de biomaterie en je neiging serieus over alle belangrijke problemen na te willen denken zijn zeer stimulerend. Na de taakaanpassing is de omvang van de activiteiten van de vakgroep verminderd. Mijn aanstelling leidde tot een verdere verandering van de onderzoekslijnen. Toch geloof ik dat je invloed nog lang merkbaar zal blijven.

Dames en Heren Assistenten en Studenten,

Zonder Assistenten en Studenten geen vakgroep biofysica en geen onderzoek. Ik hoop dat nog velen van het geboden onderwijs in de biofysica zullen profiteren en dat nog velen zich in onze vakgroep met boeiend onderzoek bezig zullen houden.

Lieve ouders,

Het doet mij goed U vanaf deze plaats te kunnen bedanken. Altijd was er een thuis. Uw houding en Uw gedrag zijn van doorslaggevende betekenis geweest voor wat ik denk en doe.

Deze lezing draag ik op aan de enige, echte, permanente aangeslagen toestand in mijn leven: mijn kinderen, Wilmar, Reina Maria, Marinus Willem en mijn vrouw, Truus.

Ik heb gezegd.

